HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on Salmonella Typhimurium DNA gyrase and the impact of gyrA mutations to quinolone susceptibility [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Kongsoi, Siriporn
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第11965号
Issue Date	2015-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/60008
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Siriporn_Kongsoi_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）　　氏名：シリポン　コングソイ

審査委員

主査	教授	鈴木　定彦
副査	教授	東　秀明
副査	准教授	磯田　典和
副査	准教授	中島　千絵

学　位　論　文　題　名

Studies on *Salmonella* Typhimurium DNA gyrase and
the impact of *gyrA* mutations to quinolone susceptibility

（*Salmonella* Typhimuriumが有するDNAジャイレースの性状と
Aサブユニット遺伝子上の変異のキノロン剤感受性への影響）

サルモネラ菌は多くの国々において食中毒原因菌の上位を占めている。近年，複数の抗菌薬に耐性を有する多剤耐性サルモネラ菌が増加傾向を示しており，その対策が急がれている。キノロン系の抗菌薬はサルモネラ菌に対して高い殺菌効果を示す事が知られており，多剤耐性菌により重症化したサルモネラ感染症の治療薬として頻繁に用いられているが，最近になってキノロン系抗菌薬耐性サルモネラ菌が出現してきており，公衆衛生上の問題となっている。この様な状況を踏まえて，コングソイ･シリポン氏は，キノロン系抗菌薬の標的である DNA ジャイレースに焦点を当て，組換え蛋白質の作出を通じたキノロン系抗菌薬耐性獲得機構の解明と，現在使用されているキノロン系抗菌薬に対して耐性を示すサルモネラ菌に有効な薬剤の選定を試みた。その成果は以下の 2 点に要約される。

第一に，コングソイ･シリポン氏は，大腸菌を宿主とする組換え蛋白質発現系を用いて，サルモネラ菌の代表として選択した *Salmonella* Typhimurium が保有する DNA ジャイレースの A，B 両サブユニットを個別に組換え蛋白質として発現させ，高純度に精製した。次に、得られた両サブユニットを等量混ぜ合わせ，良好な DNA ジャイレースの活性が得られる事を確認した後，10 種類の構造の異なるキノロン系抗菌薬の DNA ジャイレース活性に及ぼす影響と *S.* Typhimurium に対する最小阻止濃度を比較･検討し，DNA ジャイレースを対象とした試験管内試験により，キノロン系抗菌薬の *S.* Typhimurium に対する効果を判定できる事を明らかにした。更に，得られた全てのデータを総合し，キノロン系抗菌薬の6位のフッ素がDNAジャイレース活性の阻害に大きく寄与する事を示すと共に，キノロン系抗菌薬の一つであるシタフロキサシンがサルモネラ菌に対して高い抗菌活性を有するものと結論づけた。

第二に，コングソイ･シリポン氏は，公表されている数多くのデータを詳細に

解析して，サルモネラ菌のキノロン系抗菌薬耐性獲得への関与が示唆されるアミノ酸置換を抽出し，これらがDNAジャイレースAサブユニット上に存在する事を見出した。次に,既知の全変異型Aサブユニットを組換え蛋白質として発現させ，これらを用いて4種のキノロン系抗菌薬の効果を解析した。その結果，既知の変異型DNAジャイレースのうち，Aサブユニット上の83番目と87番目のアミノ酸であるセリンおよびアスパラギン酸がそれぞれフェニルアラニンおよびアスパラギンに置換されたジャイレースAサブユニットS83F-D87Nが，現在頻用されているキノロン系抗菌薬のシプロフロキサシン，並びにレボフロキサシンに高い抵抗性を有する事を見出した。一方，シタフロキサシンがS83F-D87Nに対しても十分な効果を発揮する事を示し，現在使用されているキノロン系抗菌薬に耐性を示すサルモネラ菌に対して本薬剤が効果を発揮する可能性を示した。更に，得られた全てのデータを総合して，キノロン系抗菌薬の1位および8位に存在するフッ素原子および塩素原子が変異型DNAジャイレースの活性の阻害に大きく寄与する可能性を明らかにした。

以上の様に，コングソイ･シリポン氏の本論文は，世界で最初にサルモネラ菌が保有するDNAジャレースを活性型酵素として発現･精製し，キノロン系抗菌薬に対する感受性の詳細な解析データを示した。また，アミノ酸置換を有する変異型DNAジャレースを用いた研究によりアミノ酸置換と耐性の関係を直接的に証明した。更には，キノロン系抗菌薬耐性へのアミノ酸置換の役割を直接的に証明し，以て，キノロン系抗菌薬が抗サルモネラ菌活性を発揮するために重要な分子構造を明らかにしたという点で重要な研究である。よって,審査員一同は，上記学位論文提出者コングソイ･シリポン氏の学位論文は，北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。